

**РОСТ И РАЗВИТИЕ ГЛУБИННОЙ КУЛЬТУРЫ *STEREUM HIRSUTUM*:
ВЛИЯНИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ**

Д.А. Слиж, О.Н. Жук

Полесский государственный университет, Пинск, Беларусь, d-grushevskaya@mail.ru

Грибы представляют собой особое царство. По наличию в обмене мочевины, хитина в оболочке клеток, запасного продукта гликогена, а не крахмала, напоминают животных. С другой стороны, по способу питания, по ряду процессов метаболизма, по неограниченному росту ведут себя как растения. Грибы синтезируют огромный спектр субстанций, обладающих самыми разнообразными свойствами: от лечебных до мощных ядов. Как ценный пищевой продукт и как лекарственный источник грибы используются с древних времен [1]. Их биологическая активность основана на синтезе вторичных метаболитов, таких как полисахариды, гликопротеины, протеогликаны, терпеноиды, жирные кислоты, белки и лектины. Многие противоопухолевые средства и иммуномодуляторы были получены из этих компонентов [2].

Для массового получения препаратов или очищенных биологически активных веществ из грибов предпочтительно биотехнологическое производство. Помимо круглогодичности и бережливого отношения к природе, питательная среда в ферментере легко контролируется и ее состав может быть обогащен в строго дозируемых количествах биологически активными веществами, в том числе и теми, которые могут быть рассмотрены как факторы роста. В этом ракурсе большой и оправданный интерес представляют brassinosterоиды (БС) – широко распространенные в растительном мире фитогормоны класса стероидов. Их регуляторная роль проявляется в растениях в стимуляции процессов роста, интенсивности фотосинтеза, изменении белкового метаболизма и многих других сторон обмена веществ [3]. О роли brassinosterоидов в физиолого-биохимических процессах грибов сведения ограничены, практически нет данных о влиянии разных классов БС на метаболизм грибов, разработка данного направления важна как в фундаментальном аспекте, так и в чисто практическом приложении.

Целью настоящего исследования было установление характера воздействия БС представителей ряда brassinosterоидов и ряда кастастероидов на рост и развитие базидиальных грибов в поверхностной и глубинной культуре.

Материалы и методы. Штамм *Stereum hirsutum* был выделен нами и включен в реестр коллекции штаммов грибов ГНУ «Институт леса НАН Беларуси» под номером 492. Исследуемые образцы brassinosterоидов были синтезированы в Лаборатории химии стероидов Института биоорганической химии НАН Беларуси.

Поверхностное культивирование проводили на агаризованной картофельно-сахарозной среде (КСА), с добавлением 24-эпибрассинолида (24-ЭБ) и 28-гомобрассинолида (28-ГБ) в концентрации 10^{-7} М, 24-эпикастастерона (24-ЭК) и 28-гомокастастерона (28-ГК) в концентрациях 10^{-7} М, 10^{-9} М и 10^{-12} М. Для получения глубинной культуры использовали фрагменты поверхностной культуры мицелия площадью 1 см^2 на 100 мл питательной картофельно-сахарозной среды (КСС), с добавлением БС в указанных выше концентрациях. Культивировали на шейкере WiseShake SHO при 70 об/мин, 24 °С, в течение 14 суток. Далее мицелий фильтровали, высушивали при 36 °С до постоянной массы.

Все эксперименты проведены в трех повторах.

Результаты и их обсуждение.

Поверхностное культивирование. При поверхностном культивировании на плотной питательной среде КСА, первые признаки роста у *S. hirsutum* наблюдались на 3 сутки во всех сериях эксперимента. Ростстимулирующей активности исследуемых БС по отношению к *S. hirsutum* при поверхностном культивировании не выявлено.

Глубинное культивирование. Мицелий *S. hirsutum* во всех вариантах эксперимента формировался в виде студенистого образования, клубочков и тяжей. Клубочки и тяжи были плотные, гладкие и неопушенные (рисунки 1 и 2).

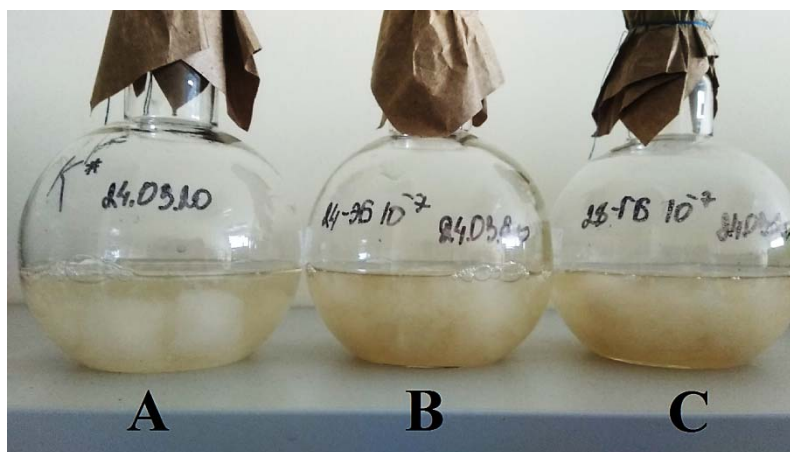


Рисунок 1. – Рост мицелия *S. hirsutum* на 14 сутки глубинного культивирования (А – контроль, В – с добавлением 24-ЭБ 10^{-7} , С – с добавлением 28-ГБ 10^{-7})

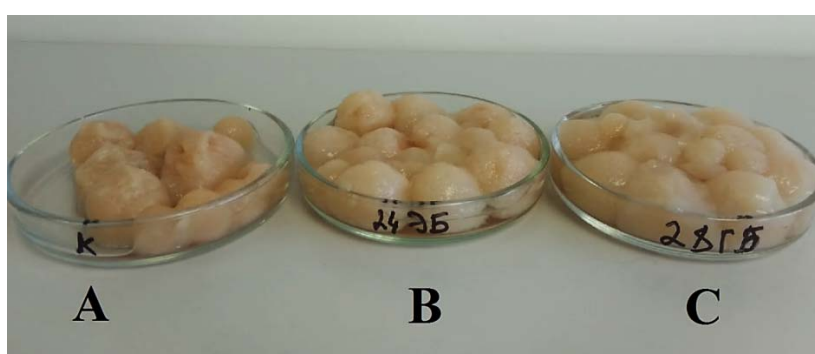


Рисунок 2. – Мицелий *S. hirsutum* на 14 сутки глубинного культивирования (А – контроль, В – с добавлением 24-ЭБ 10^{-7} , С – с добавлением 28-ГБ 10^{-7})

Степень влияния 24-ЭБ и 28-ГБ в концентрации 10^{-7} М на накопление биомассы *S. hirsutum* при глубинном культивировании в течение 14 суток анализировалась по массе влажного и сухого мицелия (таблица).

Таблица – Влияние 24-ЭБ 10^{-7} и 28-ГБ 10^{-7} на нарастание биомассы мицелия *S. hirsutum* на 14 сутки глубинного культивирования

	Влажная масса, г	Сухая масса, г
контроль	18,02±1,27	0,49±0,23
24-ЭБ 10^{-7} М	33,36±1,45	0,95±0,10
28-ГБ 10^{-7} М	46,94±0,96	1,10±0,11

Как следует из таблицы, добавление 24-ЭБ и 28-ГБ стимулирует нарастание биомассы мицелия. Показатели по влажной массе опытных колб превысили показатели колб контроля: добавление 24-ЭБ – в 1,85 раза, добавление 28-ГБ – в 2,6 раза. Аналогичная ситуация и по показателям сухой массы: добавление 24-ЭБ – в 1,9 раза, добавление 28-ГБ – в 2,3 раза. Следовательно, добавление БС ряда брассинолидов стимулирует рост и накопление биомассы *S. hirsutum*.

Что касается чувствительности *S. hirsutum* к БС ряда кастастеронов, то в аналогичных условиях культивирования результаты нами получены несколько иные (рисунок 3).

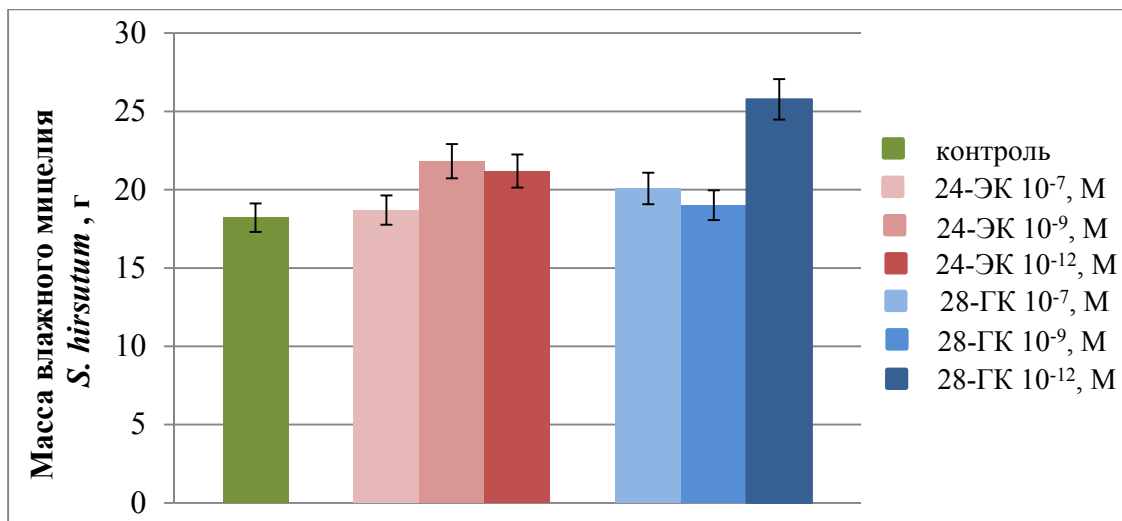


Рисунок 3. – Влияние 24-ЭЖ и 28-ГК на нарастание влажной биомассы мицелия *S. hirsutum* (14 сутки глубинного культивирования)

В этой серии экспериментов к 14 суткам масса влажного мицелия *S. hirsutum*, составила 18,21±1,82 г, при введении в питательную среду БС ряда кастастеронов масса мицелия также превышала показатели контроля, на это превышение не было таким выраженным, как у БС ряда брасинолидов. Наибольшее нарастание влажной массы мицелия индуцировалось внесением 28-ГК 10⁻¹² М – она за период культивирования в течение 14 суток достигла значений 25,77±1,47 г, что на 14% превышает значения контроля. Эти результаты свидетельствуют о меньшей степени влияния на *S. hirsutum* кастастеронов по сравнению с брасинолидами в условиях наших экспериментов.

Таким образом, в глубинной культуре дереворазрушающий гриб *S. hirsutum* отзывчив на введение БС, при этом степень влияния зависит как от их класса, так и от концентрации в среде культивирования. Стимуляция нарастания массы мицелия БС может служить основанием для введения этих соединений в питательные среды в качестве факторов роста.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственной программы научных исследований Республики Беларусь «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорхимия» на 2021-2025 годы (подпрограмма «Химические основы процессов жизнедеятельности» (Биоорхимия), задание 2.3.3.4).

Список использованных источников

1. Cheung, P. C. K. The nutritional and health benefits of mushrooms / P. C. K. Cheung // Nutrition Bulletin. – Volume 35, Issue 4, 2010. – P. 292-299.
2. Moradali, M. F. Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi) / M.F. Moradal, H. Mostafavi, S. Ghods, G.A. Hedjaroude//International Immunopharmacology. – Volume 7, Issue 6, 2007. – P. 701-724.
3. Zhabinskii, V.N. Steroid plant hormones: effects outside plant kingdom / Zhabinskii V.N., Khripach N.B., Khripach V.A. // Steroids. – Volume 97, 2015. – P. 87-97.